MÖGLICHE BEZIEHUNG ZWISCHEN ALKOHOL UND GRANULOZYTENUNTERGANG IM PERIPHEREN BLUT. KANN DER PROZESS DURCH ALPHA- TOCOPHEROL GESTOPPT WERDEN?

Manfred Pauli

Diss
München
1986

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547927_0130

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Heinz Spiess

MÖGLICHE BEZIEHUNG ZWISCHEN ALKOHOL UND GRANULOZYTENUNTERGANG IM PERIPHEREN BLUT. KANN DER PROZESS DURCH ALPHA- TOCOPHEROL GESTOPPT WERDEN?

Inaugural- Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig- Maximilians- Universität zu München

vorgelegt von
Manfred Pauli
aus
Augsburg
1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. H.J. Suschke

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. H. Spiess

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 25.03.86

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

D A N K

Herrn Prof. Dr. med. J. Suschke danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas, für seine kameradschaftliche Unterstützung und für seine wertvolle Zeit, die er an freien Wochenenden geopfert hat, um bei Durchführung der Versuche behilflich zu sein. Herzlichen Dank auch seiner Frau Gemahlin, die uns dabei in liebenswerter Weise ihre Mitarbeit angeboten hat.

Herrn Prof. Dr. med. H. Spiess danke ich für die Genehmigung, die Arbeit an der Kinderpoliklinik durchführen zu dürfen.

Ebenfalls bedanke ich mich bei Herrn Dr. med. Th. Gilg aus dem Gerichtsmedizinischen Institut München für seine wertvollen Ratschläge und seine Hilfestellung bei Auswahl der Literatur.

Desweiteren gilt mein Dank den Damen im Labor des Gerichtsmedizinischen Instituts für die Bestimmung der Blutalkoholwerte.

Nicht zuletzt danke ich ganz besonders den Studenten, die sich als Probanten zur Verfügung gestellt und keine Mühsal gescheut haben, um zum Gelingen dieser Arbeit beizutragen.

Inhaltsverzeichnis

Seite

I. EINLEITUNG 1

II. PROBLEMSTELLUNG 2

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Methode 2
2. Allgemeine Beschreibung des gefärbten Blutausstrichs unter dem Mikroskop 4
3. Testpersonen 5
4. Versuchsbedingungen und Versuchsablauf 5
5. Technik der Blutentnahme 7
6. Ergebnisse 8
6.1. Ergebnisse des 1. Trinkversuchs 9
6.2. Ergebnisse des 2. Trinkversuchs 12
6.3. Vergleichende graphische Darstellungen 14

IV. DISKUSSION 17

V. ZUSAMMENFASSUNG 26

VI. LITERATUR 27

I. EINLEITUNG

Das erschreckende Ausmaß des Alkoholmißbrauchs und die zunehmende Zahl an Alkoholkranken in unserer modernen Zivilisation führte in den letzten Jahren zu verstärkten Forschungsanstrengungen über die schädlichen Auswirkungen der Droge Alkohol auf den menschlichen Organismus und seine verschiedenen Organsysteme. Dabei stehen im Mittelpunkt des Interesses neben Leber, Gehirn und Herz-Kreislaufsystem auch das hämatopoietische System und seine verschiedenen Zellreihen. Weiß man über die möglichen Schädigungen von Erythrozyten und Thrombozyten relativ gut Bescheid, so liegen über das Verhalten der dem Immunsystem zuzurechnenden Zellgruppen bei übersteigertem Alkoholkonsum bis heute nur wenige Studien vor (5). Bekannt ist jedenfalls, daß Alkoholiker häufig Störungen in ihrer Infektabwehr aufweisen, deren Ursache sowohl in einer verminderten Granulozytenreserve als auch in Leukozytenfunktionsstörungen vielfältiger Art zu suchen ist (5,8,10).
Dementsprechend wird bei chronischen Alkoholikern eine vermehrte Anfälligkeit für Infektionskrankheiten, hauptsächlich im Bereich der Atemwege, beobachtet (5,8,10). Daneben imponiert ein gehäuftes Auftreten von Krebserkrankungen, in erster Linie des Bronchialkarzinoms, zu deren Entstehen im Zusammenhang mit langjährigem Alkoholismus unter anderen Faktoren auch eine Schwächung des Immunsystems, vornehmlich der zellvermittelten Abwehr, beiträgt (8,10)
Die meisten Arbeiten auf diesem Gebiet befassen sich mit chronischen Alkoholikern, teilweise mit gleichzeitig bestehenden schweren Lebererkrankungen.
Dabei erhebt sich die Frage, ob es auch bei gesunden Normalpersonen, die noch keine Alkoholabhängigkeit entwickelt haben, zur Schädigung von Zellen der weißen Reihe, etwa im Sinne eines Zerfalls bzw. einer strukturellen Schädigung, bei akuter übermäßiger Alkoholzufuhr kommen kann.

II. PROBLEMSTELLUNG

Nachdem Alkohol als Lipidlösungsmittel bekannt ist und Membranen lebender Zellen einen hohen Lipidanteil aufweisen, sollte versucht werden zu klären, ob durch Alkoholgenuß Zellen des peripheren Blutes verändert werden können.
Als Zielzellen der vorliegenden Untersuchung boten sich Granulozyten wegen ihrer kurzen Lebensdauer an. Dazu wurde eine in der Kinderpoliklinik München entwickelte Methode angewandt, mit der es möglich ist, vitale von devitalisierten Zellen im Blutausstrich zu unterscheiden.
Sollte sich zeigen, daß Alkohol zu einer Zunahme devitalisierter Granulozyten führt, interessiert die Frage, ob alpha-Tocopherol (= Vitamin E) aufgrund seiner möglichen zytoprotektiven Eigenschaften in der Lage ist, alkoholbedingte Schädigungen dieser Zellen zu verhindern.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Methode

Bei der im folgenden beschriebenen Methode handelt es sich um eine Fluoreszenzfärbung, die eine Unterscheidung vitaler von zugrunde gegangenen Leukozyten ermöglicht. Grundlage dieser Methode sind unterschiedliche Ladungen im Bereich der Zellmembran aller lebenden Zellen (17).

Venös entnommenem Blut wird das Polyanion Heparin angeboten, das sich bei erhaltenem Membranpotential der Zellen elektrostatisch an die positiven Ladungen bindet und durch ein Fluorochrom sichtbar gemacht wird.

Bei devitalisierten Zellen ist das Membranpotential zusammengebrochen und Heparin kann sich nicht mehr an die Zellmembran anlagern (16,17). Bewährt hat sich diese Methode vor allem zur Beurteilung phagozytierender Zellen (Granulozyten, Monozyten) (17).

Venöses Blut wird in EDTA-Gefäße überführt und innerhalb einer Stunde wie folgt verarbeitet: 50 µl EDTA-Blut werden 50 µl Barbital-Na/HCl-Puffer (0,1 n, ph 7) zugesetzt. Anschließend Zugabe von 2 µl Heparin-Natrium (Braun) = 10 IE und Schütteln der Probe. Anfertigen von Blutausstrichen. Nach sorgfältigem Trocknen der Ausstriche Färbung mit einer 0,4%-igen 9-Aminoacridinhydrochlorid-Lösung (Merck) für 10 Minuten. Der Farbstoff wird in 50%-igem Äthanol gelöst, erneutes Trocknen. Zweitfärbung mit einer wässrigen Acridinorange-Lösung (Merck) 1:30.000 für 2 Minuten. Entfernen des Farbstoffes und Trocknen der Ausstriche.

Die Auswertung erfolgt im Fluoreszenzmikroskop "Ortholux" (Leitz) mit dem Ölimmersionsobjektiv 100/1,30. Untersuchung der Präparate in Auflichtfluoreszenz mit einer Xenon-Hochdrucklampe 75 in Verbindung mit dem Blauerregerfilter BG 12 (Leitz) und dem Sperrfilter TK 510 (Leitz). Photographische Aufnahmen mit Ectachrome Highspeed (Tageslicht). Belichtungszeit 5 - 10 Sekunden.

Ausgezählt werden 100 Zellen, wobei sich diese Zahl aus allen erkennbaren, vitalen Granulozyten, sowie den devitalisierten Leukozyten zusammensetzt.

2. Allgemeine Beschreibung des gefärbten Blutausstrichs unter dem Mikroskop

Die im peripheren Blut vorkommenden Zellen, also Erythrozyten, Lymphozyten, Monozyten, Thrombozyten sowie Granulozyten, weisen die von der Pappenheimfärbung bekannten Formen auf. Alle vitalen Zellen sind von rotfluoreszierenden, kugelförmigen Partikeln umgeben, die aus einem Heparin- Farbstoffkomplex bestehen. Dieser Komplex wird unmittelbar an den Membranen der Zellen gefunden, sowie diese intakt sind. Der Zellkern von mononukleären Zellen und Granulozyten fluoresziert gelb, das Zellplasma erscheint in einem hellen Grün. Vitale Thrombozyten weisen ebenfalls eine Grünfluoreszenz auf. Devitalisierte Zellen lagern Heparin nicht an die Zellmembran an und können so leicht von vitalen Zellen unterschieden werden. Kern- und Zellplasma verlieren überdies ihre gelbe bzw. grüne Fluoreszenz, es tritt eine Braunfärbung auf und die Zellen zerfließen oft. Die Abbildungen 1 und 2 zeigen einen vitalen und einen devitalisierten Granulozyten.

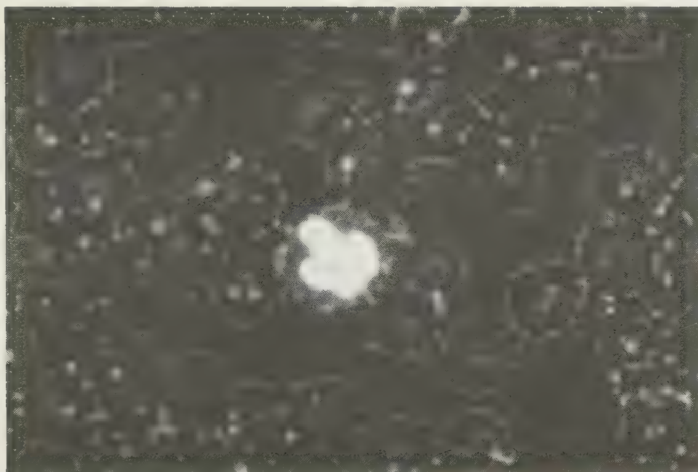


Abb. 1: Vitaler Granulozyt

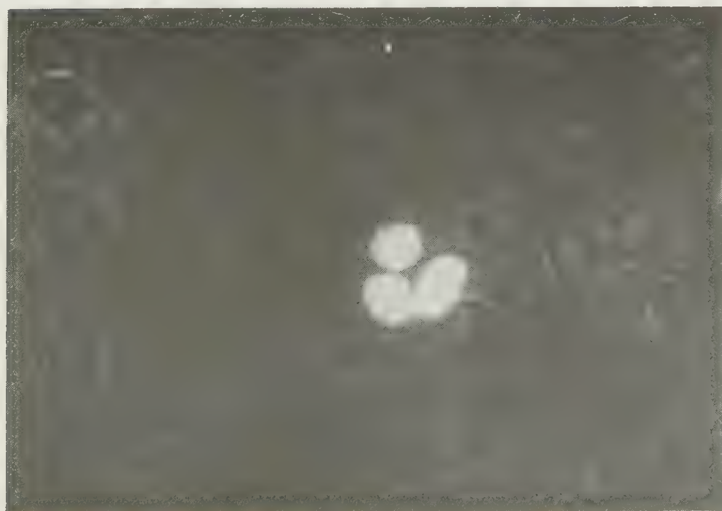


Abb. 2: Devitalisierter Granulozyt

3. Testpersonen

Es stellten sich insgesamt 10 Personen als Probanden zur Verfügung, die sich freiwillig den für die Untersuchung erforderlichen zwei Trinkversuchen unterzogen. Es handelte sich hierbei ausnahmslos um Studenten männlichen Geschlechts im Alter von 20 bis 30 Jahren.
Alle waren klinisch gesund und berichteten über allgemeines Wohlbefinden. Bei keinem war ein chronischer übermäßiger Alkoholkonsum eruierbar. Die getrunkene Alkoholmenge wurde mit durchschnittlich einem Liter Bier täglich angegeben, entsprechend 40 Gramm reinen Alkohols (4,14). Sie dürfte sich damit im Bereich eines in unserer Gesellschaft als normal empfundenen Alkoholkonsums bewegen.

4. Versuchsbedingungen und Versuchsablauf

Es wurden im Abstand von drei Wochen zwei Trinkversuche durchgeführt, an denen alle 10 Probanden gemeinsam teilnahmen. Dabei wurde Wert darauf gelegt, daß auf beiden Sitzungen, die jeweils an einem Samstagvormittag stattfanden, annähernd identische Bedingungen gegeben waren. Die Probanden hatten mehr als 24 Stunden vor Trinkbeginn weder alkoholische Getränke noch Medikamente zu sich genommen.

Nachdem die Probanden nicht übermäßig gefrühstückt hatten, startete der Trinkversuch jeweils um 11 Uhr und endete um 13 Uhr. Den Teilnehmern wurde auferlegt, innerhalb von zwei Stunden je 6 halbe Liter Bier zu trinken (helles Bier vom Faß mit einem Alkoholgehalt von ca. 40 g pro Liter).

Zwischendurch wurde zur besseren subjektiven Verträglichkeit eine kleine Mahlzeit serviert, bestehend aus einem Paar Weißwürsten und einer Breze. Vor dem zweiten Trinkversuch hatten die Versuchspersonen alpha-Tocopherol (= Vitamin E) der Marke "Spondyvit 500"* in einer Gesamtdosierung von 2,4 g zu sich genommen, verteilt auf drei Einzelgaben am Tag zuvor (3 x 400 mg) und eine Einzeldosis von 1200 mg am Tage des Trinkversuches nach dem Frühstück, also kurz vor Trinkbeginn.
Sieben der 10 Probanden tranken jeweils die vorgegebene Menge von 6 halben Litern Bier, einer nahm 7 zu sich, einer 5, einer kam über 4 Halbe nicht hinaus. Es war jedoch gewährleistet, daß jeder der Teilnehmer an beiden Testtagen identische Mengen zu sich nahm.

Die Probanden überstanden beide Trinkversuche relativ gut, sie machten einen mäßig bis stark alkoholisierten Eindruck. Nur eine Versuchsperson klagte nach der zweiten Sitzung über starke Übelkeit mit Erbrechen wenige Stunden nach Trinkende. Es muß jedoch erwähnt werden, daß beide Trinkversuche unter ärztlicher Aufsicht stattfanden, um bei eventuell auftretenden Komplikationen rechtzeitige Hilfe sicherzustellen.

*<u>Anmerkung</u>: Spondyvit 500, Kapseln. Eine Kapsel enthält:
d - alpha - Tocopherolacetat 544 I.E. = 400 mg

5. Technik der Blutentnahme

Die Blutentnahmen wurden an beiden Testtagen in gleicher Weise durchgeführt. Um den Prozentsatz devitalisierter Granulozyten in nüchternem Zustand als Ausgangswert zu bestimmen, wurde den Probanden unmittelbar vor Trinkbeginn venöses Blut aus der Kubitalvene entnommen. Verwendet wurde dazu eine Kanüle der Größe 1, aus der eine geringe Menge Blut direkt in ein EDTA-Röhrchen überführt wurde. Die Proben wurden bis zur Verarbeitung kühl gelagert.

Eine halbe Stunde nach Trinkende wurde die zweite Probe entnommen, diesmal jedoch mit einem speziellen Entnahmesystem, der Venüle nach Koller Nr. 3c der Behringwerke, bei der die Kanüle mit einem 8 ml-Glasgefäß über einen Gummiverschlußpfropfen verbunden ist. Nach Einstechen in die Vene gelangt das Blut mittels eines Vakuums direkt in das zugehörige Entnahmegefäß. Diese Entnahmetechnik kommt üblicherweise auch in gerichtsmedizinischen Instituten zur Bestimmung der Blutalkoholkonzentration aus forensischen Gründen zum Einsatz. Sinn dieses Vorgehens war die beabsichtigte Bestimmung der Blutalkoholkonzentration (= BAK), um eine mögliche Korrelation zwischen der Höhe des Blutalkoholspiegels und dem zu erwartenden Zellzerfall überprüfen zu können. Die zur Anfertigung der Blutausstriche benötigte Menge Blut wurde der Venüle durch Durchstechen des Gummiverschlußpfropfens mittels einer Einser-Kanüle entnommen und wiederum in EDTA-Gefäße überführt.

Nach Versuchsende wurden sämtliche Proben unverzüglich ins Labor gebracht, um sogleich Blutausstriche und Färbungen durchzuführen. Die Bestimmung der BAK erfolgte im Gerichtsmedizinischen Institut der Universität München mittels des dort gebräuchlichen Gaschromatographieverfahrens.

6. Ergebnisse

Folgende Daten werden erfaßt:

1. Devitalisierte Granulozyten in Prozentangabe vor und nach dem 1. Trinkversuch ohne Vitamin E

2. Devitalisierte Granulozyten vor und nach dem 2. Trinkversuch nach vorheriger oraler Vitamin E - Gabe

3. Blutalkoholkonzentration (BAK) in Promille

4. Getrunkene Menge in Gramm reinen Alkohols

5. Körpergewicht in Kilogramm

Da die BAK neben zahlreichen endogenen und exogenen Faktoren vor allem auch vom Körpergewicht abhängig ist, soll dieses als objektiv meßbares Kriterium zur Erläuterung der teilweise erheblich voneinander abweichenden BAK-Werte mit angeführt werden.

Die Ergebnisse werden in tabellarischer Form aufgelistet und erläutert. Abschließend werden anhand graphischer Darstellungen die Ergebnisse beider Trinkversuche einander gegenübergestellt.

6.1. Ergebnisse des 1. Trinkversuchs

Proband Nr.	Devitale Granul. nüchtern in %	Devitale Granul. nach Alkohol in%	BAK in Promille	Trinkmenge in g Alkohol	Körpergewicht in kg
1	10	11	1,62	120	75
2*	2	13	1,98	100	58
3*	21	40	1,44	140	107
4	16	10	1,31	120	68
5*	5	26	1,39	120	98
6	11	7	1,69	120	65
7	14	9	0,97	120	85
8	13	16	1,01	80	89
9*	10	40	0,99	120	82
10*	3	23	1,75	120	79

Tab. 1: Ergebnisse aus dem 1. Trinkversuch ohne vorheriger Gabe von Vitamin E.
*Die mit einem Stern gekennzeichneten Probanden zeigen eine deutliche Zunahme devitalisierter Granulozyten nach Alkoholzufuhr.

Erläuterungen zu Tabelle 1

Suschke untersuchte 75 Kinder und Jugendliche, die klinisch gesund und ohne Entzündungszeichen waren (BKS unter 15, CRP negativ), auf ihren Anteil an devitalen Granulozyten im peripheren Blut. Die Spannweite lag zwischen 0 und 11% bei einem Mittelwert von $5,3 \pm 2,72$. Dagegen fand sich bei Kindern und Jugendlichen mit entzündlichen rheumatischen Erkrankungen deutlich erhöhte Werte bis zu 40% (17). Da bei jungen Erwachsenen grundlegend abweichende Verhältnisse nicht zu erwarten sind, soll auch in vorliegender Arbeit von Normwerten zwischen 0 und 11% devitalisierter Granulozyten ausgegangen werden.

Wie aus Tab. 1 ersichtlich ist, zeigt nur ein Proband einen deutlich erhöhten, nach oben gemachten Ausführungen als pathologisch zu wertenden Nüchternwert von 21% devitalisierter Granulozyten. Da Alkoholgenuß am Tage vor dem Trinkversuch anamnestisch auszuschließen war, könnte ein sich anbahnender Infekt als mögliche Erklärung für den erhöhten Ausgangswert diskutiert werden. Genauere Angaben darüber waren im nachhinein aber nicht mehr zu erhalten. Bei den übrigen Probanden liegen die Nüchternwerte annähernd im Normbereich. Geringfügige Abweichungen, in Tab. 1 bis zu 16, können nicht als pathologisch gewertet werden.

Nach Alkoholzufuhr zeigt sich bei 5 Probanden (Nr. 2,3,5,9,10) - in Tab. 1 mit einem Stern gekennzeichnet - ein deutlicher Anstieg devitalisierter Zellen auf Werte bis zu 40%. Dabei ist es nicht so sehr entscheidend, daß sich der Anstieg über die obere Grenze der Norm hinausbewegt. Auch eine auffällige Zunahme geschädigter Zellen innerhalb des Normbereichs, z.B. bei Proband Nr. 2 von 2 auf 13%, kann als alkoholbedingte Schädigung aufgefaßt werden.

Einem geringgradigen Anstieg oder Abfall nach Alkoholgenuß gegenüber den Nüchternwerten wird keine Bedeutung beigemessen. Leichten Schwankungen nach oben oder unten können meßtechnische Ungenauigkeiten zugrunde liegen.

Im Nachfolgenden soll geprüft werden, inwieweit eine nach Alkoholzufuhr auftretende Zunahme des Anteils an geschädigten Granulozyten von der Höhe des Blutalkoholspiegels abhängig ist.

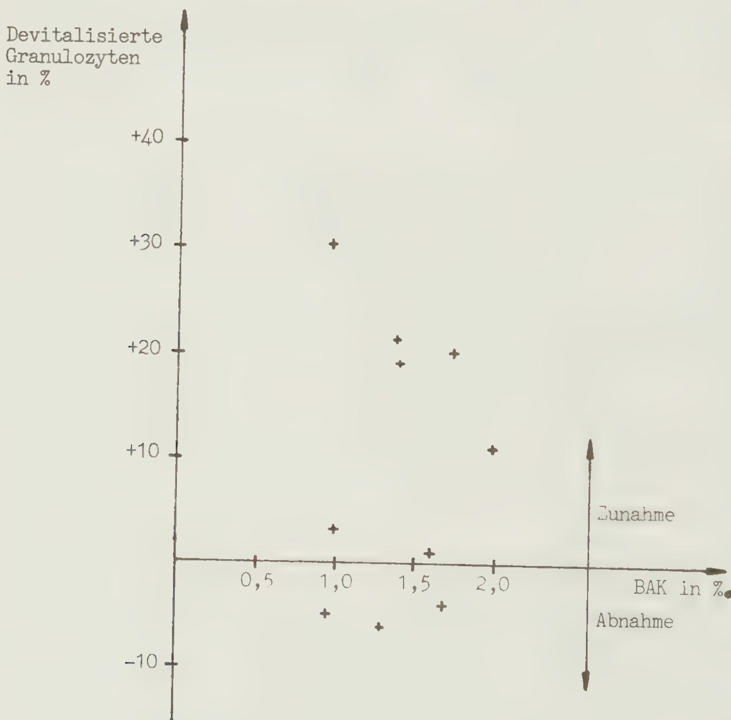


Abb. 3

In Abb. 3 werden die Bewegungen der Prozentzahlen geschädigter Zellen als Differenz zwischen den Werten vor und nach Trinkversuch gegen die jeweilige Blutalkoholkonzentration (BAK) aufgetragen. Daraus wird kein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß des Zellzerfalls und der BAK ersichtlich. Aufgrund der geringen Fallzahl erscheint eine Korrelationsberechnug als nicht sinnvoll.

6.2. Ergebnisse des 2. Trinkversuchs

Vor dem 2. Trinkversuch hatten die Probanden hochdosiertes Vitamin E zu sich genommen. Die dabei ermittelten Werte gehen aus Tabelle 2 auf Seite 13 hervor.

Wie zu erwarten, sind die Nüchternwerte devitaler Granulozyten größtenteils nicht identisch mit den Nüchternwerten aus dem 1. Trinkversuch. 6 der 10 Probanden zeigen erhebliche Abweichungen (am deutlichsten bei Proband Nr. 6 mit einem um 13% höheren Ausgangswert). Die BAK-Werte differieren nur unerheblich von denen aus dem 1. Trinkversuch. Deutlich erkennbar ist jedoch, daß die Prozentzahlen devitalisierter Zellen trotz der Zufuhr derselben Alkoholmengen wie beim 1. Trinkversuch diesmal annähernd stabil geblieben sind. Bei keinem der Probanden kam es zu einer signifikanten Zunahme geschädigter Granulozyten

Proband Nr.	Devitale Granul. nüchtern in %	Devitale Granul. nach Alkohol in %	BAK in Promille	Trinkmenge in g Alkohol	Körpergewicht in kg
1	12	12	1,67	120	75
2	9	11	1,91	100	58
3	10	3	1,49	140	107
4	8	9	1,08	120	68
5	12	13	1,36	120	98
6	24	20	1,68	120	65
7	10	15	1,17	120	85
8	1	6	0,75	80	89
9	10	8	1,26	120	82
10	7	4	1,73	120	79

Tab. 2: Ergebnisse aus dem 2. Trinkversuch nach vorheriger Gabe von hochdosiertem Vitamin E

6.3. Vergleichende graphische Darstellungen

In nachfolgenden Abbildungen soll der Einfluß von alpha-Tocopherol auf das Ausmaß des Granulozytenuntergangs nach Alkoholeinwirkung veranschaulicht werden.

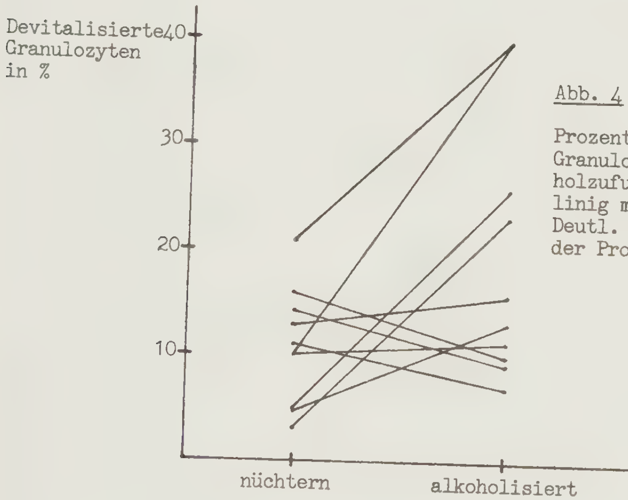


Abb. 4

Prozentzahlen devitalisierter Granulozyten vor und nach Alkoholzufuhr ohne Vit. E, geradlinig miteinander verbunden. Deutl. Anstieg bei der Hälfte der Probanden.

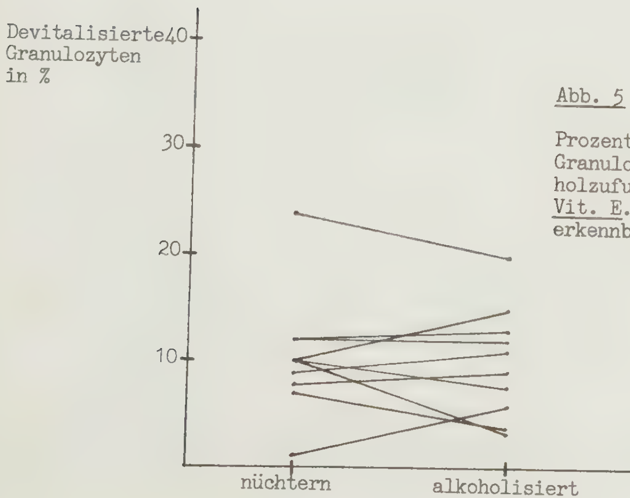


Abb. 5

Prozentzahlen devitalisierter Granulozyten vor und nach Alkoholzufuhr unter Einfluß von Vit. E. Praktisch kein Anstieg erkennbar.

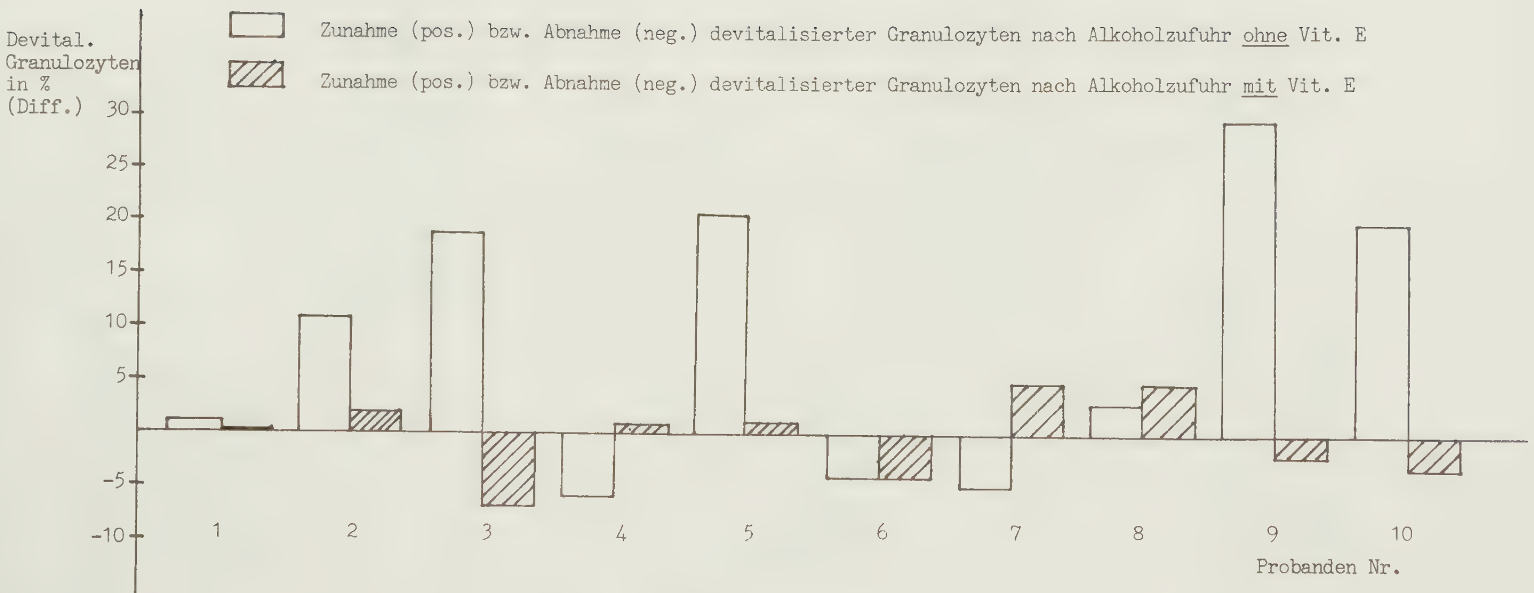


Abb. 6: Graphische Darstellung zur Veranschaulichung der Zunahme bzw. Abnahme devitalisierter Granulozyten nach Alkoholzufuhr. Bei Probanden Nr. 2,3,5,9,10 deutlicher Unterschied zwischen Trinkversuch ohne Vitamin E (jeweils linker Balken) und mit Vitamin E (jeweils rechter Balken).

In Tabelle 3 sollen die Mittelwerte aus den Prozentzahlen geschädigter Zellen beider Trinkversuche miteinander verglichen werden.

	Mittelwerte in %	
	ohne Vitamin E	mit Vitamin E
nüchtern	10,5	10,3
alkoholisiert	19,5	10,1

Tab. 3

Aus Tabelle 3 ergeben sich zwei Erkenntnisse:

1. Die Mittelwerte aus den Prozentzahlen devitalisierter Granulozyten des 1. Trinkversuches ohne Vitamin E und des 2. Trinkversuches mit Vitamin E, ermittelt jeweils vor Alkoholzufuhr, sind nahezu identisch. Vitamin E scheint auf den physiologischen Zelluntergang keinen Einfluß zu haben.

2. Der Mittelwert aus den Prozentzahlen geschädigter Zellen zeigt bei Alkoholzufuhr ohne vorherige Vitamin E-Applikation einen deutlichen Anstieg um 9%. Bei Alkoholzufuhr nach vorheriger oraler Vitamin E-Gabe bleibt der Anstieg aus.

IV. DISKUSSION

Für die vorliegende Untersuchung einer möglichen zytotoxischen Wirkung von Äthylalkohol auf Zellen des peripheren Blutes wurden Granulozyten als Zielzellen ausgewählt. Wegen ihrer kurzen Lebensdauer von nur wenigen Stunden kann bereits unter normalen Bedingungen ein variabler Prozentsatz devitalisierter Granulozyten mit der hier beschriebenen Färbung ermittelt werden. Als obere Grenze der Norm wird nach den bisherigen Erkenntnissen ein Wert von annähernd 11% geschädigter Zellen definiert (17), wobei jedoch erst eine deutlichere Zunahme auf 20% und darüber den Verdacht auf ein pathologisches Geschehen lenken sollte. Bei dem hier untersuchten Kollektiv von 10 Personen liegen vor beiden Trinkversuchen jeweils bei neun die Nüchternwerte auch im Normbereich, nur einer kam jeweils etwas über 20% hinaus. Als mögliche Ursachen für einen signifikant erhöhten Anteil an devitalisierten Granulozyten kommen in Frage Infektionen, entzündliche rheumatische Erkrankungen (17) und vermutlich eine Vielzahl toxischer Einflüsse, die in der Lage sind, akute Zellschädigungen zu verursachen. Bei infektiösen und entzündlichen rheumatischen Erkrankungen spielt die Phagozytose infektiösen Materials und/oder von Immunkomplexen durch Granulozyten und Makrophagen eine entscheidende Rolle (2,17). Mit Hilfe einer Vitalfärbung ist es möglich, klinisch inapparent verlaufende Infekte oder Infektionen im Stadium der Inkubation vor Auftreten klinischer Symptome zu erfassen. Darin könnte eine Erklärung für die erhöhten Nüchternwerte in den oben erwähnten beiden Fällen zu suchen sein.

Bei 50% der Probanden kam es nach Alkoholgenuß zu einer deutlichen Zunahme devitalisierter Zellen. Bei Wiederholung des Trinkversuches, diesmal jedoch nach vorheriger Gabe von Vitamin E in hoher Dosierung, blieb der Anstieg aus.

Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß aufgrund der geringen Fallzahl gesicherte statistische Angaben nicht möglich sind. Aus ethischen Gründen wurde auf eine Einbeziehung eines größeren Kollektivs in die Trinkversuche verzichtet, stellt doch die Einverleibung großer Mengen Alkohols in einem relativ kurzen Zeitraum hohe Anforderungen an Motivation und Belastbarkeit der Betroffenen. Auch ist es schwierig, unter den gegebenen Bedingungen eine ausreichend hohe Zahl von Versuchspersonen zu gewinnen. Unter diesen Umständen kann vorliegende Arbeit nicht die Aussagekraft umfassender Studien in Anspruch nehmen, vielmehr handelt es sich um eine Pilotstudie, die allenfalls einen Trend zu oben beschriebenen Ergebnissen aufzuzeigen vermag.

Bei Darstellung der Ergebnisse wurde bereits darauf hingewiesen, daß eine Beziehung zwischen der Höhe des Blutalkoholspiegels und des Granulozytenzerfalls nicht festzustellen war. Dennoch ist es denkbar, daß mit höheren Blutalkoholkonzentrationen der Anstieg devitalisierter Zellen noch deutlicher ausgefallen wäre. Möglicherweise wäre dann auch bei den fünf Probanden, die keine Reaktion im Sinne eines verstärkten Granulozytenuntergangs gezeigt haben, ein Anstieg zu erreichen gewesen.
In diesem Zusammenhang muß auch der Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme berücksichtigt werden. Wenn sich die Alkoholaufnahme über einen längeren Zeitraum erstreckt, ist die Resorption mit Trinkende praktisch abgeschlossen. Erfolgt dagegen die Aufnahme größerer Mengen Alkohols in einem relativ kurzen Zeitraum, wie das in vorliegender Untersuchung mit einer Trinkzeit von 2 Stunden der Fall war, so erreicht der Blutalkoholspiegel sein Maximum erst ca. 45-60 Minuten nach Trinkende (14).

Da die Resorptionsgeschwindigkeit unter anderem auch wesentlich von einer gleichzeitigen Nahrungsaufnahme bzw. dem Füllzustand des Magens vor Trinkbeginn beeinflußt wird (4,9,14), kann die maximale Blutalkoholkonzentration (= BAK) noch später erreicht werden. In unserem Fall wurde die zweite Blutentnahme etwa eine halbe Stunde nach Trinkende vorgenommen, also möglicherweise noch vor Abschluß der resorptiven Phase und somit vor Erreichen der maximalen BAK.
Neben zahlreichen exogenen Faktoren wird die Höhe des Blutalkoholspiegels im wesentlichen durch die Geschwindigkeit seiner Eliminierung aus dem Organismus bestimmt. Etwa 90% des Alkohols wird durch Oxidation in der Leber eliminiert (9). Verantwortlich dafür ist in erster Linie die Alkoholdehydrogenase (ADH), ein zytoplasmatisches Enzym, das die Oxidation des Alkohols zu Azetaldehyd katalysiert (4,9,14,18). Unterschiedliche ADH-Aktivitäten bzw. ein unterschiedlicher ADH-Gehalt der Leber verursachen erhebliche interindividuelle Unterschiede in bezug auf die Abbau- und somit Eliminierungsrate (18). Andere Autoren sehen den zeitlimitierenden Faktor des Alkoholabbaus in der Geschwindigkeit, mit der NADH, das bei der Oxidation des Alkohols zu Azetaldehyd entsteht, wieder zu NAD zurückoxidiert werden kann, welches als Coenzym im Rahmen des Alkoholabbaus erforderlich ist (9). Eine hohe ADH- Aktivität bzw. eine schnelle Rückoxidation von NADH zu NAD hat somit nicht nur eine niedrigere Blutalkoholkonzentration zur Folge, sie verringert auch die Verweildauer des Alkohols im Blut. Damit verkürzt sich auch seine Einwirkdauer auf die hier zu untersuchenden Granulozyten, was wiederum eine niedrigere Rate devitalisierter Zellen zur Folge haben könnte.

Es ist unklar, inwieweit die Zerfallsquote von der Einwirkzeit des Alkohols auf die Zellen abhängig ist. Es muß diskutiert werden, ob der Höhepunkt des Zelluntergangs möglicherweise erst nach einem größeren zeitlichen Abstand zum Trinkende, vielleicht sogar erst am darauffolgenden Tag, zu erfassen gewesen wäre. Mehrere aufeinanderfolgende Blutentnahmen, etwa im Abstand von einer Stunde, könnten Aufschluß geben sowohl über den Verlauf der Blutalkoholkurve als auch hinsichtlich der Frage nach einer möglichen zeitlichen Abhängigkeit der Granulozytenschädigung von der Verweildauer des Alkohols im Blut. In vorliegendem Versuch wurde jeweils nur eine Blutprobe eine halbe Stunde nach Trinkende entnommen. Auf mehrere Entnahmen wurde verzichtet, weil dadurch die Mitarbeit der Probanden in Frage gestellt worden wäre. Es kam jedoch in erster Linie darauf an nachzuweisen, daß es zu Zellschädigungen von Granulozyten durch Aufnahme größerer Alkoholmengen kommen kann.

Es war nicht Gegenstand dieser Arbeit zu untersuchen, über welche Mechanismen es zur alkoholischen Schädigung der Granulozytenstruktur kommen kann. Es soll jedoch im folgenden versucht werden, einige Theorien, die in der Literatur in anderen Zusammenhängen beschrieben sind, als mögliche Erklärungen anzubieten.
Schrek und Stefani wiesen einen signifikanten zytoziden Effekt von Alkohol, allerdings in einer hohen Konzentration von 2,4%, auf menschliche Lymphozyten in vitro nach (13). In anderen Arbeiten wird auf den toxischen Einfluß von Äthanol auf Erythrozyten und Thrombozyten eingegangen. So beobachtet man bei Alkoholikern mit alkoholinduzierten Lebererkrankungen besonders nach akuten Alkoholintoxikationen gehäuft hämolytische Anämien (5,6,8).

Verantwortlich gemacht werden dafür unter anderem Membrandefekte, intrazelluläre Stoffwechselstörungen der Erythrozyten, metabolische Ketoazidosen, alpha- Tocopherolmangelzustände im Serum und in den Erythrozytenmembranen sowie sekundäre durch die Hepatopathie bedingte Störungen des Fettstoffwechsels (5,6).
Mit Hilfe einer Vitalfärbung werden Granulozyten als devitalisiert erkannt, wenn sie nicht mehr in der Lage sind, mit Fluoreszenzfarbstoff markiertes Heparin an ihre Zellmembranen anzulagern. Da dem ein Zusammenbruch des Membranpotentials zugrunde liegt, müssen alkoholbedingte Membranschädigungen möglicherweise als entscheidende Ursache für den Zelluntergang diskutiert werden. Es ist bekannt, daß Alkohol in biologischen Membranen eine akute Zunahme der Membranfluidität bewirkt. Untersucht wurde dieses Phänomen hauptsächlich an Nervenzellmembranen, aber auch an Leberzell- und Erythrozytenmembranen. Alkohol diffundiert zwischen die Lipidstrukturen der Membran und zerstört das geordnete Muster der Fettsäureseitenketten. Die Membran weicht auf, ihre Fluidität nimmt zu. Die Funktion membrangebundener Enzyme, die auf ein geordnetes Mikromilieu angewiesen sind, ebenso zahlreiche Membranrezeptoren und transmembranäre Transportvorgänge werden gestört. Außerdem wird die osmotische Resistenz der Zelle herabgesetzt, die Membran wird durchlässiger für wasserlösliche Substanzen (1,4,15).
Zusammenfassend dürfte für den alkoholbedingten Granulozytenuntergang ein Zusammenspiel komplexer Störungen verantwortlich gemacht werden. In Frage hierfür kämen insbesonders intrazelluläre Stoffwechselstörungen der Granulozyten, eine im Zuge des Alkoholmetabolismus auftretende metabolische Ketoazidose sowie Membranschädigungen mit all ihren Folgen. Nicht zuletzt sei auch auf das beim Alkoholabbau entstehende Oxidationsprodukt Azetaldehyd hingewiesen, dem ein starker zytotoxischer Effekt zugeschrieben wird (4,9,18).

Vor Diskussion einer möglichen zytoprotektiven Wirkung von alpha- Tocopherol im Zusammenhang mit einer übermäßigen Alkoholzufuhr sollen klinische Anwendungsmöglichkeiten und Wirkungsmechanismen von Vitamin E zusammenfassend dargestellt werden.

Über die Wirksamkeit pharmakologischer Dosen von alpha- Tocopherol (= Vitamin E) gehen die Meinungen teilweise stark auseinander. Am deutlichsten sichtbar wird ein therapeutischer Effekt dieser Substanz offensichtlich dann, wenn zuvor ein Vitamin E- Mangel bestanden hat. Nach Böhles muß grundsätzlich bei allen unreifen Frühgeborenen von einer Vitamin E- Mangelsituation ausgegangen werden, da diese über eine noch unzureichende Speicherkapazität für Vitamin E verfügen (3).
Dies erklärt sich aus der mangelhaften Ausbildung ihres Fettgewebes, das an der Anreicherung von Vitamin E einen wesentlichen Anteil haben soll. Desweiteren finden sich bei Frühgeborenen erniedrigte Konzentrationen von Serumlipoproteinen, die für den Transport von Vitamin E im Blut verantwortlich sind.
Im Kindesalter kommt es zu Vitamin E- Mangelerscheinungen hauptsächlich bei zystischer Fibrose oder Gallengangsatresie sowie bei schweren Malabsorptionssyndromen (3).
Aus diesem Verständnis heraus erklärt sich das zunehmende Interesse an dieser Substanz gerade in der Pädiatrie. So konnten beispielsweise beachtliche Erfolge bei der Behandlung des Neugeborenenikterus erzielt werden, ebenso ließ sich die Häufigkeit intraventrikulärer Gehirnblutungen bei Frühgeborenen signifikant verringern. Der Schweregrad der retrolentalen Fibroplasie, einer gefürchteten Augenkomplikation unter der Beatmungstherapie unreifer Frühgeborener, konnte durch Gabe von Vitamin E deutlich vermindert werden.

Außerdem ließen sich dadurch neurologische Ausfälle, die durch einen Vitamin E- Mangel bedingt waren, beheben. Auch das hämolytisch urämische Syndrom, welches insbesondere bei Kleinkindern nach Infekten der oberen Atemwege oder nach Gastroenteritiden beobachtet wird, sprach gut auf eine Vitamin E-Therapie an (3).
Über den Wirkungsmechanismus von Vitamin E liegen zahlreiche Arbeiten vor. Weitgehend einig scheint man sich über seine Funktion als Antioxidans zu sein. Grundlage dieser Antioxidanstheorie ist die Überlegung, daß Zellmembranen durch freie Radikale, insbesondere durch aggressive Sauerstoffmoleküle, geschädigt werden können. Dabei kommt es zur Peroxidation ungesättigter Fettsäuren, die Bestandteile von Zellmembranen und intrazellulärer Membransysteme sind. Vitamin E, das aufgrund seiner Lipophilie in Membranen eingelagert werden kann, fungiert als Redoxsystem, das freie Radikale abfängt und somit die Zelle vor oxidativen Einwirkungen schützt (2,3,7,11,12).
Blankenhorn et al. weisen auf die zentrale Bedeutung aggressiver Sauerstoffverbindungen hin, die von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen im Rahmen der Phagozytose von Immunkomplexen intrazellulär gebildet werden (2). Bei Freisetzung dieser Sauerstoffmoleküle kommt es zur Schädigung von Zellen und extrazellulären Gewebestrukturen, was an der Aufrechterhaltung entzündlicher Reaktionen wesentlichen Anteil haben soll. Durch hochdosierte Gabe von Vitamin E können Sauerstoffradikale als Entzündungsmediatoren ausgeschaltet werden. Aus dieser Überlegung heraus ergäbe sich eine Indikation für den Einsatz von Vitamin E im Rahmen einer antiphlogistischen Therapie, vor allem in der Behandlung rheumatischer Erkrankungen, zumal dadurch steroidale und nichtsteroidale Antirheumatika eingespart werden könnten, die mit teilweise erheblichen Nebenwirkungen belastet sind. Aufgrund seiner guten Verträglichkeit würde sich Vitamin E zur antiphlogistischen Langzeittherapie anbieten (2).

Desweiteren konnte eine Beeinflussung des Prostaglandinstoffwechsels durch alpha- Tocopherol nachgewiesen werden. Durch Steigerung der Prostacyclinsynthese vermag Vitamin E die Thrombozytenaggregationsfähigkeit herabzusetzen (3,12). Eine mögliche prophylaktische Anwendung zur Vermeidung von Mikroangiopathie und Atherosklerose bei insulinpflichtigem Diabetes mellitus Typ I steht zur Diskussion (3).
Vitamin E zeigt keine nennenswerten Nebenwirkungen. Vereinzelt wurde bei Frühgeborenen das Auftreten einer nekrotisierenden Enterokolitis nach oraler Applikation beobachtet, deren Ursache sowohl in der hyperosmolaren Präparation als auch in einer möglichen toxischen Wirkung auf die noch unreife Darmschleimhaut Neugeborener gesehen wird (3). Daneben zeigte sich eine erhöhte Sepsisrate Frühgeborener, die mit Vitamin E behandelt wurden. Verantwortlich gemacht wird dafür eine Beeinträchtigung der Phagozytosefähigkeit von Granulozyten (3). Auch bei Erwachsenen muß bei einem gleichzeitig bestehenden Vitamin K- Mangel mit einer erhöhten Blutungsneigung unter hochdosierter Vitamin E- Therapie gerechnet werden, da Vitamin E, wie bereits erwähnt, die Thrombozytenaggregationsfähigkeit beeinträchtigen kann (3,12).

Es ist unklar, auf welche Weise Vitamin E lebende Zellen vor alkoholbedingten Schädigungen zu schützen vermag. Neben seiner Funktion als natürlichem membrangebundenem Redoxsystem zum Schutz der Zelle vor oxidativen Einflüssen soll Vitamin E durch seine Verankerung in der Zellmembran über chemische Bindungen an Arachidonsäure auch zur Stabilisierung der Membranstruktur beitragen (11). Alkohol selbst scheint keine direkte oxidative Wirkung zuzukommen.

Möglicherweise spielt der membranstabilisierende Effekt von alpha- Tocopherol die entscheidende Rolle bei der Abwehr alkoholtoxischer Schädigungen der Membranstruktur. Durch verstärkte Einlagerung von Vitamin E bei hochdosierter Gabe könnte beispielsweise die Zunahme der Membranfluidität unter Alkoholeinfluß mit all ihren negativen Folgen verhindert werden.

Bei vorliegender Untersuchung wurde jedem Probanden d- alpha- Tocopherolacetat in einer Gesamtdosierung von 2,4 g oral verabreicht, davon die eine Hälfte kurz vor Trinkbeginn, die andere gleichmäßig verteilt über den Tag zuvor. Dabei kam es bei keinem zu einer auffälligen Zunahme devitalisierter Granulozyten im Blutausstrich, was auf einen möglichen zytoprotektiven Effekt von Vitamin E gegen alkoholische Schädigungen hindeutet. Um die hier vermuteten Zusammenhänge mit gesicherten statistischen Angaben erhärten zu können, wären jedoch umfassendere Studien an weitaus größeren Kollektiven erforderlich. Sollten sich die in vorliegendem Pilotprojekt erzielten Ergebnisse bestätigen lassen, könnte sich ein neues interessantes Einsatzgebiet für Vitamin E ergeben, denkbar etwa im Sinne der Prävention alkoholbedingter Schädigungen vielfältiger Art.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe einer Vitalfärbung von Leukozyten ist es möglich, devitalisierte und intakte Zellen zu unterscheiden.
Es sollte ein möglicher zytozider Effekt von Äthylalkohol auf Granulozyten im peripheren Blut untersucht werden.
Desweiteren wurde die Frage geprüft, ob alpha- Tocopherol (= Vitamin E) in der Lage ist, einen zytoprotektiven Effekt gegen alkoholbedingte Schädigungen zu entwickeln.

In die vorliegende Untersuchung wurden 10 Probanden einbezogen. Nach dem ersten Trinkversuch zeigte sich bei 50% ein deutlicher Anstieg devitalisierter Granulozyten.
Nach hochdosierter Gabe von Vitamin E konnte im zweiten Trinkversuch bei keinem der Probanden eine merkliche Zunahme defekter Zellen nachgewiesen werden.

Zur Erhärtung der hier aufgezeigten Zusammenhänge erscheinen weitere Studien als lohnenswert. Bei Bestätigung des sich abzeichnenden Trends könnte ein präventiver Einsatz von Vitamin E erwogen werden.

VI. LITERATUR

1. Beauge F. et al. (1985) Abnormal fluidity on surface carbohydrate content of the erythrocyte membrane in alcoholic patients. Alcoholism Vol. 9, No. 4, 322-326.

2. Blankenhorn G., Fischer J., Seuß J. (1985) Möglichkeiten und Grenzen der Antioxidans- Therapie entzündlicher rheumatischer Erkrankungen mit hochdosiertem Vitamin E. Akt. Rheumatol. 10, 125-128.

3. Böhles H. (1985) Neuere Aspekte von Vitamin E für die Kinderheilkunde. Klin. Pädiat. 197, 386-391.

4. Fußgänger R.D. (1981) Alkoholmetabolismus und Stoffwechselwirkungen. Z. Allg. Med. 57, 1405-1418.

5. Goebel K.M. (1978) Alkoholbedingte hämatologische Störungen. Int. 19, 110-115.

6. Goebel K.M. (1981) Alkoholinduzierte Störungen der Erythropoese. Therapiewoche 31, 591-596.

7. Green J. (1972) Vitamin E and the biological antioxidant theory. N.Y. Acad. Sci. 203, 29-44.

8. Heidemann E. (1984) Die Blutbildung und das Immunsystem unter Alkoholeinwirkung. Dtsch. med. Wschr. 109, 1247-1248.

9. Kuntz E. (1985) Alkoholbedingte Stoffwechselstörungen im Leberzell- Stoffwechsel. Interaktionen mit Medikamenten. Aus: Biologie der Sucht. Springer Verlag, Hrsg.: Keup W., 69-78.

10. Lorenz J., Ferlinz R. (1985) Bronchopulmonale Erkrankungen bei Alkoholismus. Dtsch. med. Wschr. 110, 1086-1088.

11. Molenaar J., Vos J., Hommes F.A. (1972) Effect of Vitamin E deficiency on cellular membranes. Vitams Horm. 30, 45-82.

12. Phelps D.L. (1979) Vitamin E: where do we stand? Pediatrics 63, 933.

13. Schrek R., Stefani S.S. (1981) Effects of alcohol and hyperthermia on normal and leukemic lymphocytes. Oncology 38, 69-71.

14. Schwerd W. (1975) Kurzgefaßtes Lehrbuch der Rechtsmedizin für Mediziner und Juristen. Dtsch. Ärzte- Verlag, 103-120.

15. Sun G.Y. et al. (1985) Ethanol and membrane lipids. Alcoholism Vol. 9, No. 2, 164-171.

16. Suschke H.J. et al. (1985) Zellmembranunterschiede zwischen malignen und nichtmalignen Zellen. Monatsschr. Kinderheilkd. 133, 891-893.

17. Suschke H.J. (1986) Unveröffentlichte Ergebnisse.

18. Wartburg von, J.P. (1985) Genetische Suchtdisposition: Mögliche biochemische Mechanismen. Aus: Biologie der Sucht. Springer Verlag, Hrsg.: Keup W., 15-30.

L E B E N S L A U F

Name:	Manfred Pauli
Geburtstag, -ort:	30. Mai 1958 in Augsburg
Familienstand:	ledig
Eltern:	Paul Pauli, Ingenieur, und Elisabeth Pauli, Schneidermeisterin
Schulabschluß:	1977 Abitur am Peutinger Gymnasium in Augsburg
Studium der Medizin:	WS 1977/78 bis SS 1984 in Berlin, Tübingen, München (LMU) Physikum: August 1979 1. Staatsexamen: August 1980 2. Staatsexamen: März 1983 3. Staatsexamen: April und Juni 1984 Approbation erteilt am 12. Juni 1984
Ärztliche Tätigkeit:	Wehrdienst als Truppenarzt vom 01. August 1984 bis 31. Oktober 1985